

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
4. Januar 2001 (04.01.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 01/00802 A2

- (51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12N 15/00 (81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/05853
- (22) Internationales Anmeldedatum:
23. Juni 2000 (23.06.2000)
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität:
199 29 365.1 25. Juni 1999 (25.06.1999) DE
- (71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US*): BASF-LYNX BIOSCIENCE AG [DE/DE]; D-69120 Heidelberg (DE).
- (72) Erfinder; und
- (75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): MACK, Matthias [DE/DE]; Mönchhofstrasse 3 C, D-69120 Heidelberg (DE). HERBSTER, Karin [DE/DE]; Kolpingstrasse 23a, D-76694 Forst (DE).
- (74) Anwalt: GOLDSCHIED, Bettina; BASF Aktiengesellschaft, D-67056 Ludwigshafen (DE).
- (84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: PARTIAL SEQUENCES OF THE GENES OF THE PRIMARY AND SECONDARY METABOLISM FROM *CORYNEBACTERIUM GLUTAMICUM* AND THEIR USE IN THE MICROBIAL PRODUCTION OF PRIMARY AND SECONDARY METABOLITES

(54) Bezeichnung: TEILSEQUENZEN DER GENE DES PRIMÄR- UND SEKUNDÄRMETABOLISMUS AUS *CORYNEBACTERIUM GLUTAMICUM* UND IHR EINSATZ ZUR MIKROBIELLEN HERSTELLUNG VON PRIMÄR- UND SEKUNDÄRMETABOLITEN

(57) Abstract: The invention relates to methods of producing primary and secondary metabolites using genetically engineered organisms.

(57) Zusammenfassung: Die vorliegende Erfindung befaßt sich mit Herstellungsverfahren für Primär- und Sekundärmetabolite mit Hilfe gentechnisch veränderter Organismen.

WO 01/00802 A2

Teilsequenzen der Gene des Primär- und Sekundärmetabolismus aus *Corynebacterium glutamicum* und ihr Einsatz zur mikrobiellen Herstellung von Primär- und Sekundärmetaboliten

5

Beschreibung

Die vorliegende Erfindung befaßt sich mit den Herstellungsverfahren für Primär- und Sekundärmetabolite mit Hilfe eines gentechnisch veränderten Organismus. Diese Erfindung besteht in Teilsequenzen von Genen, die anabolische und katabolische Enzyme aus *Corynebacterium glutamicum* kodieren, und aus ihrem Einsatz zur mikrobiellen Herstellung von Metaboliten.

- 10 Die Konzentrationen der Metabolite sind in lebenden Zellen gewöhnlich gut ausbalanciert und überschreiten nicht eine gewisse Grenze. Unter manchen Wachstumsbedingungen oder als Folge einer gentechnischen Veränderung können sie allerdings im Überschuß gebildet und in das Kulturmedium ausgeschieden werden. Für das Zellwachstum kann man relativ billige Stoffe als Kohlenstoffquelle verwenden. Mit Hilfe des biochemischen Potentials der Zellen (in den meisten Fällen mikrobiellen Ursprungs) oder der Enzyme lassen sich diese preiswerten Stoffe in ein breites Spektrum wertvollere Substanzen umwandeln. Zur fermentativen Herstellung von Metaboliten zu Verkaufszwecken setzt man insbesondere Mikroorganismen ein. Mikroorganismen lassen sich durch gentechnische Veränderung der Biosynthesewege in ihrer Biosyntheseleistung auf bestimmte Metabolite hin optimieren, und man erzielt dadurch höhere Syntheseleistungen. Gentechnische Veränderung meint hier, daß die Anzahl der Kopien oder die Geschwindigkeit der Transkription bestimmter Gene für bestimmte Synthesewege erhöht ist. Allerdings muß man die geeigneten Zielgene für diese Verbesserung zuerst identifizieren. Wir beschreiben nun im folgenden die Zielgene und Teilsequenzen davon, die durch Klonen der DNA und anschließende Sequenzierung mit dem Ziel der Stammverbesserung identifiziert wurden.

Ein Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 1 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 1 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 2 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 2 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

2

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 3 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 3 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

5

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 4 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 4 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

10

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 5 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 5 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

15

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 6 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 6 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

20

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 7 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 7 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

25

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 8 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 8 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

30

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 9 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 9 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

35

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 10 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 10 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

40

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht in einem Genfragment mit einer Nucleotidsequenz, die in der SEQ ID NR. 11 beschrieben ist oder sich von dieser Sequenz SEQ ID NR. 11 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20 % der Nucleotide ableitet.

45

3

Ein weiterer Teil der Erfindung besteht im Einsatz der Nucleotidsequenz SEQ ID NR. 1 oder SEQ ID NR. 2 oder SEQ ID NR. 3 oder SEQ ID NR. 4 oder SEQ ID NR. 5 oder SEQ ID NR. 6 oder SEQ ID NR. 7 oder SEQ ID NR. 8 oder SEQ ID NR. 9 oder SEQ ID NR. 10 oder SEQ ID NR. 11 zur Konstruktion genetisch modifizierter Mikroorganismen.

Die vollständigen Gene lassen sich mit Hilfe konventioneller Techniken wie Hybridisierung herstellen, wobei man von den oben
10 offenbarten Genfragmenten ausgeht. Diese Gene lassen sich einsetzen zur Konstruktion rekombinater Wirtsorganismen, die die Biosynthese wertvoller Bioprodukte, wie Aminosäuren, Fettsäuren, Kohlenhydrate, Vitamine und Kofaktoren ermöglichen. Die biologische Aktivität dieser Gene wird im experimentellen Teil dieser
15 Beschreibung offenbart. Mit Hilfe dieser Gene wird es möglich, Engpässe bei der Biosynthese von Bioprodukten zu umgehen und so die Syntheseleistung mikrobieller Systeme zu steigern.

Ein weiterer Gesichtspunkt dieser Erfindung besteht in einem
20 Expressions-Vektor mit zumindest einem der oben erwähnten Polynucleotide. Der Expressions-Vektor verbindet funktionell eines oder mehrere dieser Polynucleotide mit regulatorischen Einheiten wie Promotoren, Terminatoren, ribosomale Bindungsstellen und dergleichen. Gewöhnlich gehören zu einem Expressions-Vektor weitere
25 Einheiten wie Genmarker und Replikationsabschnitte.

Ein weiterer Gesichtspunkt der Erfindung besteht in der mit einem Expressions-Vektor transformierten Wirtszelle.

30 Zur gentechnischen Veränderung kann man jeden beliebigen prokaryontischen Mikroorganismus verwenden, vorzugsweise *Corynebacterium*- und *Bacillus*-Arten, aber auch jeden beliebigen eukaryontischen Mikroorganismus, vorzugsweise Hefestämme der Gattung *Ashbya*, *Candida*, *Pichia*, *Saccharomyces* und *Hansenula*.

35 Ein weiterer Gesichtspunkt der Erfindung besteht in einer Methode zur Herstellung und Reinigung eines Polypeptids, die in folgenden Schritten besteht:

40 (a) Kultivierung der Wirtszelle aus Anspruch 3 unter Bedingungen, die für die Expression des Peptids geeignet sind; und

(b) Gewinnung des Polypeptids aus der Wirtszellkultur.

45 In den folgenden Beispielen wird die Erfindung detaillierter beschrieben.

Beispiel 1

Herstellung einer Genombibliothek von *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032

5

Die DNA aus dem Genom von *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032 läßt sich nach Standardmethoden gewinnen, die z.B. von Altenbuchner, J. und Cullum, J. (1984, Mol. Gen. Genet. 195:134-138) beschrieben sind. Die Genom-Bibliothek läßt sich daraus mit jedem beliebigen Klonierungsvektor, z.B. pBluescript II KS- (Stratagene) oder ZAP Express™ (Stratagene), nach Standardvorschriften gewinnen (z.B. Sambrook, J. et al. (1989) Molecular cloning: a laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press). Jede beliebige Fragmentgröße kann man dabei verwenden, vorzugsweise 15 Sau3AI-Fragmente mit einer Länge von 1 kb, die sich in Klonierungsvektoren mit verdautem BamHI einbinden lassen.

Beispiel 2

20 Analyse der Nucleinsäuresequenzen der Genombibliothek

Aus der im Beispiel 1 hergestellten Genombibliothek kann man einzelne *E. coli*-Klone auswählen. *E. coli*-Zellen werden nach Standardmethoden in geeigneten Medien kultiviert (z.B. LB ergänzt mit 100 mg/l Ampicillin), und danach läßt sich dann die Plasmid-DNA isolieren. Klont man Genomfragmente aus der DNA von *Corynebacterium glutamicum* in pBluescript II KS- (siehe Beispiel 1), läßt sich die DNA mit Hilfe der Oligonucleotide 5'-AATTAAC-CCTCACTAAAGGG-3' und 5'-GTAATACGACTCACTATAGGGC-3' sequenzieren.

30

Beispiel 3

Computeranalyse der isolierten Nucleinsäuresequenzen

35 Die Nucleotidsequenzen lassen sich z.B. mit Hilfe des BLASTX-Algorithmus (Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403-410) aneinanderfügen. Auf diesem Weg kann man neuartige Sequenzen entdecken und die Funktion dieser neuartigen Gene aufklären.

40 Beispiel 4

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit einem Genfragment für die Fettsäuresynthase (2.3.1.85)

45 Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde, an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine

5

Sequenz, wie sie mit SEQ ID NR. 1 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) ergab diese Sequenz Ähnlichkeit mit Fettsäuresynthasen aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit war mit einem Fragment mit 519 Basenpaaren für die Fettsäuresynthase aus *Corynebacterium ammoniagenes* gegeben (NRDB Q04846; 68% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

Beispiel 5

10

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit dem Gen für die Phytoen-Dehydrogenase (EC 1.3.-.-)

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 2 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit Phytoen-Dehydrogenasen aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit der Phytoen-Dehydrogenase aus *Methanobacterium thermoautotrophicum* (NRDB O27835; 37% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

Beispiel 6

25

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit dem Gen für die Alkohol-Dehydrogenase (EC 1.1.1.1)

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 3 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit Alkohol-Dehydrogenasen aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit der Alkohol-Dehydrogenase aus *Bacillus stearothermophilus* (NRDB P42327; 50% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

Beispiel 7

40

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit einem Genfragment für ein Homologes der Adenosylmethionin-8-Amino-7-oxononanoat-Aminotransferase (EC 2.6.1.62)

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine

6

Sequenz, die als SEQ ID NR. 4 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit Adenosylmethionin-8-Amino-7-oxononanoat-Aminotransferasen aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus 342 Basenpaaren bestehenden Fragment für die Adenosylmethionin-8-amino-7-oxononanoat-Aminotransferase aus *Erwinia herbicola* (NRDB P53656; 40% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

10 Beispiel 8

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit einem Genfragment für ein Homologes der Phosphoglycerat-Mutase 2 (EC 5.4.2.1)

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 5 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit Phosphoglycerat-Mutasen 2 aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus 204 Basenpaaren bestehenden Fragment für die Phosphoglycerat-Mutase 2 aus *Mycobacterium tuberculosis* (NRDB P71724; 54% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

25

Beispiel 9

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit einem Genfragment für die Xylulose-Kinase (EC 2.7.1.17)

30

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 6 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit Xylulose-Kinasen aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus 633 Basenpaaren bestehenden Fragment für die Xylulose-Kinase aus *Streptomyces rubiginosus* (NRDB P27156; 48% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

40

Beispiel 10

Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit einem Genfragment für eine Fettsäure-CoA-Ligase für langkettige Fettsäuren (EC 6.2.1.3)

45

7

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 7 beschrieben ist. Bei der Anwendung
5 des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit Fettsäure-CoA-Ligasen für langkettige Fettsäuren aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus 369 Basenpaaren bestehenden Fragment für die Fettsäure-CoA-Ligase für langkettige Fettsäuren aus *Archaeoglobus*
10 *fulgidus* (NRDB 030302; 48% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

Beispiel 11

15 Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit einem Genfragment für die Guanosinpentaphosphat-Synthetase

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene
20 Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 8 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit Guanosinpentaphosphat-Synthetasen aus verschiedenen Organismen. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus
25 606 Basenpaaren bestehenden Fragment für die Guanosinpentaphosphate-Synthetase aus *Streptomyces coelicolor* (NRDB 086656; 70% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

Beispiel 12

30 Identifizierung eines *E. coli*-Klons mit einem Genfragment für ein NTRB-Homologes

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene
35 Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 9 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit NTRB-Homologen aus verschiedenen Organismen. NTRB
40 ist ein Regulatorgen für die Transkription, das an der Regulierung der Stickstoffassimilation beteiligt ist. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus 645 Basenpaaren bestehenden Fragment für NTRB aus *Mycobacterium leprae* (NRDB Q50049; 61% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

Beispiel 13

Identifizierung eines *E. coli*-Klons, der ein *nifS*-Homologes enthält

5

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine Sequenz, die als SEQ ID NR. 10 beschrieben ist. Bei der Anwendung
10 des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit *nifS* aus verschiedenen Organismen. *NifS* ist an der Stickstofffixierung beteiligt. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus 594 Basenpaaren bestehenden Fragment für *nifS* aus *Mycobacterium leprae* (NRDB Q49690; 62% Übereinstimmung auf
15 der Stufe der Aminosäuren).

Beispiel 14

Identifizierung eines *E. coli*-Klons, der ein *nifU*-Homologes enthält
20

Bei der Analyse der *E. coli*-Klone, wie sie im Beispiel 2 beschrieben wurde und an die sich die im Beispiel 3 beschriebene Analyse der dabei erhaltenen Sequenzen anschloß, fand sich eine
25 Sequenz, die als SEQ ID NR. 11 beschrieben ist. Bei der Anwendung des BLASTX-Algorithmus (siehe Beispiel 3) zeigte diese Sequenz Ähnlichkeit mit *nifU* aus verschiedenen Organismen. *NifU* ist an der Stickstofffixierung beteiligt. Die größte Ähnlichkeit ergab sich mit einem aus 339 Basenpaaren bestehenden Fragment für *nifU*
30 aus *Mycobacterium leprae* (NRDB Q49683; 61% Übereinstimmung auf der Stufe der Aminosäuren).

Sequenzliste

35 (I) Allgemeine Angaben

(1) Anmelder:

(A) Name:	BASF-LYNX Bioscience AG
40 (B) Straße:	Im Neuenheimer Feld 515
(C) Stadt:	Heidelberg
(D) Land:	Deutschland
(E) Postleitzahl:	69120
(F) Telephon:	06221/4546
45 (G) Telefax:	06221/454770

9

(2) Titel: Sequenzen der Gene für den Primär- und Sekundärmetabolismus im *Corynebacterium glutamicum* und ihr Einsatz zur mikrobiellen Herstellung von Primär- und Sekundärmetaboliten

5

(3) Anzahl der Sequenzen: 11

(4) Art der mit dem Computer lesbaren Form:

10

(A) Datenträger: Diskette
(B) Computer: IBM PC kompatibel
(C) Betriebssystem: Windows NT
(D) Software: Microsoft® Word 97 SR-1

15

(I) Angaben zur SEQ ID NR. 1:

(1) Sequenzcharakteristika:

20 (A) Länge: 693 Basenpaare
(B) Art: Nucleinsäure
(C) Strangtyp: Doppelstrang
(D) Topologie: linear

25 (2) Molekülart: DNA
(3) hypothetisch: nein
(4) Antisense: nein

(5) Herkunft:

30

(A) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 1:

35 CTGTTNCCCGGGGATCAGATTCACNGGGTCNGCCAGTGAAGTCGACGGTGATTGGCGCGGATGC
TGCCTGCTCGCGAACAGTGGAAGTTGCCTGGGACAGCAGTTTCTCTGCAATTTCTTGGGTGGAGT
AGGTTTCCACGCCTGCTTCTTCAGCTGCCTTGACCAAAGGATCGTTGCCGCCCATGAGGCCGGTG
CCGCGAACCCAACCGATGTGAGCGTGCACGAGGGAGGTGTGTGCTCCCCATGCAGCTTGCTCTGC
GTTCCAACGGGTAACCACGGCGTCGAGAGCTGCCTTGGATTACCGTATGCACCATCGCCACCGA
40 AGCGTCCACGGTTTTGGTGAACCTGGGATGACCACGTGCAGGCGGTGACCCACGTTGATGGAGGAG
CCCAATGGCGCAAGACCTGCGATGAGGCGCTCAACAGACCAGAGCAGAAGTCGATCTGGGATTG
TGCTGTGGCTGCATCTGCATGGATCCGGACACGCGAGGTGCCGCGAATGGGAACAGCAAGGTAN
GGACCAAACCTGGCTTGACCAGCTTGGATGCNCGTGACGGNGGTGGCTGTCGATCCACCCAGTTGA
TGATGGCTCGATGTCTGATANGACTAAGTTACCGCACGATCACAGTGCTGCCTGCCGNTGCCGAA
45 CGTCCTANNANTCTTGAGAATTCAGCCGNCTGGCCGAGTTGAN

10

(I) Angaben zu SEQ ID NR. 2:

(1) Sequenzcharakteristika:

- 5 (A) Länge: 1869 Basenpaare
(B) Typ: Nucleinsäure
(C) Strangtyp: Doppelstrang
(D) Topologie: linear
(2) Molekülart: DNA
10 (3) hypothetisch: nein
(4) Antisense: nein

(5) Herkunft:

15 (B) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 2:

ACAATCAATGTCATGACCAGCGGTGATCCAAAATTAATTACGCTTCGTTCCCGCAATAACAAAGT
20 TGTCGAAATAACAGATGCCCCGTGATCGTGCTTTCATTAAGCAGGCTGATGAGCTGATCGTGAAGA
TCGACAAACTGCTTGAGAGCAAAGAAAAAGTCCCGTTAAGTCCGATCCACACTGTTGTCCCCG
CGGAGACGCTTGAGCACGTTTTCTGCAGAGATCAAACACATAGATACGCCCCACCCCTGGAAGTGT
GGTGTACCTGCGTCATACAGGCCATCTACTTTGCGGGATTGTGTAGAACCCCTAAAGAACGCCG
ATTGTGCCAGGGTGTGTGAGGGGCCAATGGACCCGCCGCTCCAGGAGTTGTATCGGTCTGCGAAG
25 TCGGCAGGGCCGATGGTGCCTGCACAACAATGCGGCTTTCAAACCATCAATGCCAGCCCATCG
CCCAATTTGAGCCACTGCTGCTATTGCGATCCGGCCCCACCATGTCAGATTCTTCTCCGTAAGCGG
ACCCGTGACCAATGGAGACATCGGCGGGTACTGGGACCAGGATGAAGAGGTTCTCGTGGCCTTCG
GGTGCGGCATCGGAATCTGTTGCGGAGGTCTTGGAGATCTAGATGGATTCTGAAGCCGGGAATTC
TGGGGTGGAGCCGTCGAAAACCTTTGCGGAAATCTTCGTCCCAGTCGGAGGAAAAAGCAGGGTGTG
30 CTCCCCCTTCACGCCTGCCAAAACAGCACAGTACTGAGGCCGGGTGTTTTGTTCTTCCAGCTCG
TCTCCGGCTTCGCGCACAACGAAGCAGGTAGGAGTTGGGTTTCGGTGTGGTGTGCTGATCAGCGCAG
CTGATCACGATATCGGCTTCGATGAACTCTGAGCCGACTTGGACGCCTGTGGCGTTTCGGCCTTG
GGTGGTGATTGCGCTGACGGGGGTGCCGAGGTGGAGGACGGCGTCGTCGATAAGCGAAATTAGTG
CCTTGATGAAGGCGGTGAAGCCGCCTCGGGGATAGGAGACGCCTTGGACGAGGTCGGTGTGGCTC
35 ATGAGGTGATAGAGCGCCGGGGTGTGCGAAGGGTCTGAGGAGAGGAAAAGTGCGGGGTAGCTTAA
GATTTGGCGCAGTTTTGTATCGCGGAATTGGGTGTTGACCTTGACTTTTAGCGAGGTCGACAGGC
TTGCTAGAAGTTTGGGTAAAAGGCGCAGCATGCCGGGGCTTAAGTATGGGATGAAGTTGGTGAAG
TTGGTGTAGAGGAAGCCGTCGATGGCCAGGTGTAGACCTGTGTGGCGGAGTCGATATAGGTGCG
CAGTTTGGCGCGCGCGCGGGTTCGCGGGATTGAAAAGCTCGGCCATCGCATCGATGTCGGAGG
40 TGACGTGATGAATTGCGCGTGGTTCGTCGATGACGCGGTAGGCGGGTTCAAGTGGCAGGAGTCG
AGGTGGTTCGTCGATGGAGGTGCCGCAGAGCTTAAAGAAGTGGGACATGGCGTCGGGCATGAGGTA
CCAGCTGGGGCCGGTGTCCCAGCGGAAGCCGTCGAGTTCGAAGGTCCCGGCGCGGCCGCGAGGT
GCTCGTTTTGTTTCGACGAGGTGGACTTCATATCCTTCGCGTAAGAGCAGTGGGTGGTGGCTAGT
CCTGCTAGTCCCCCGCGGATGACCACTGCTTTTGTGATTTTGAACACTTCTTTCCACATTGCT
45 TTGGTTGCCAGGCTGGCTTTTTTCATAGACGGCACCCGAATCCGCCCGTTTTTTAAGTCTTCGAG

11

GGACGCGGATTCCAGGTTGTCCACGAGGCAACCGTAGAGATCGGTCGCGGGCGCGCACACCGGTTTC
GCGCGCCAAATGGCAGCAGCGGAATGCTCAGCCGGGCGGCATCCAAATC

(I) Angaben zur SEQ ID NR. 3:

5

(1) Sequenzcharakteristika:

(A) Länge: 1035 Basenpaare

(B) Typ: Nucleinsäure

10 (C) Strangtyp: Doppelstrang

(D) Topologie: linear

(2) Molekülart: DNA

(3) hypothetisch: nein

15 (4) Antisense: nein

(5) Herkunft:

(C) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

20

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 3:

ATGACCACTGCTGCACCCCAAGAATTTACCGCTGCTGTTGTTGAAAAATTCGTTTCATGACGTGAC
CGTGAAGGATATTGACCTTCCAAAGCCAGGGCCACACCAGGCATTGGTGAAGGTACTCACCTCCG
25 GCATTTGCCACACCGACCTCCACGCTTGGAGGGCGATTGGCCAGTAAAGCCGGAACCACCATTC
GTACCAGGACACGAAGGTGTAGGTGAAGTTGTTGAGCTCGGACCAGGTGAACACGATGTGAAGGT
CGGCGATATTGTCGGCAATGCGTGGCTCTGGTCAGCGTGTGGCACCTGCGAATACTGCATCACCG
GCAGGGAAACTCAGTGCAACGAAGCTGAGTATGGTGGCTACACCCAAAATGGATCCTTCGGCCAG
TACATGCTGGTGGATACCCGTTACGCCGCTCGCATCCCAGACGGCGTGGACTACCTCGAAGCAGC
30 ACCAATTCTGTGTGCAGGCGTGACTGTCTACAAGGCACTCAAAGTCTCTGAAACCCGCCCGGGCC
AATTCATGGTGATCTCCGGTGTGCGCGGACTTGGCCACATCGCAGTCCAATACGCAGCGGCGATG
GGCATGCGTGTCAATTGCGGTAGATATTGCCGATGACAAGCTGGAACCTGCCCCGTAAGCACGGTGC
GGAATTTACCGTGAATGCGCGTAATGAAGATTCAGGCGAAGCTGTACAGAAGTACACCAACGGTG
GCGCACACGGCGTGCTTGTGACTGCAGTTCACGAGGCAGCATTCGGCCAGGCACTGGATATGGCT
35 CGACGTGCAGGAACAATTGTGTTCAACGGTCTGCCACCGGGAGAGTTCCCAGCATCCGTGTTCAA
CATCGTATTCAAGGGCCTGACCATCCGTGGATCCCTCGTGGAACCCGCCAAGACTTGGCCGAAG
CGCTCGATTTCTTTGCACGCGGACTAATCAAGCCAACCGTGAGTGAGTGCTCCCTCGATGAGGTC
AATGGTGTGCTTTACCGCATGCGAAACGGCAAGATCGATGGTCTGTGGCGATTTCGTTTC

40 (I) Angaben zur SEQ ID NR. 4:

(1) Sequenzcharakteristika:

(A) Länge: 1002 Basenpaare

45 (B) Typ: Nucleinsäure

(C) Strangtyp: Doppelstrang

12

(D) Topologie: linear

(2) Molekülart: DNA

(3) hypothetisch: nein

5 (4) Antisense: nein

(5) Herkunft:

(D) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

10

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 4:

AAGTGGAGCTCGCGCGCCTGCAGGTGACACTAGTGGATCAGAGGCATACTCCGGCGGACTCACC
TACTCCGGACACCCACTTGCAGTAGCACCCGCCAAGGCAGCGCTGGAGATTTACGCGGAAGGAGA
15 GATCATTTCCACGCGTAGCTCGACTTGGCGCTGAACTGATCGAACCTCGCCTTCGTGAACTAGCGG
AAGAAAACGTAGCGATCGCTGACGTGCGGGGCATCGGATTCTTCTGGGCAGTGGAGTTCAATGCA
GACGCCACTGCCATGGCTGCCGGTGCTGCAGAATTCAGGAACGCGGCGTGTGGCCGATGATCTC
CGGCAACCGATTCCACATCGCGCCGCGCTGACCACCACTGATGACGAATTGGTAGCACTGCTGG
ACGCGGTGGAAGCTGCAGCCCCAAGCTGTGCGAGCTGACCTTCGCTGGGGCGTTGTTCTAAGTTTTT
20 TAGATAACAAGGCCAGCACAGACCACCATNTCTACGACCCCCAAAACCGACTCCAAGCTCCGCGG
CGACNAANCCGCGCTCGCGCCACCGACCAAGCAGCCGGTCCAGGTTTAAAGATTTTGTCTTTTCGA
CGCTCCCCCTCCACCTCATTTCAATGCGGCGGAAGGGATTTCTTGCATGTTTAAGCCTATAGGAAA
AAGTGTGTTGCATATCACCTTGTATTCCAACACTTGAGCGGGTAGANTGGGTGGTAACNACCCNG
GGAAAGGGGGAAGACACCATGAGCATCNCCACNCACNTCCAAGCNCTCNCCACAGCANTCAACGC
25 CATCNACAACCATTTGGNCAGCATGCTCNAACATNGTGTTTCNCCCANAACAATANANGGCNTNNA
NCCCGACTCANCNCCTANAAACNCCTTCACCACACGCCNCCTTCGNCCCCAAACCAAACCTCG
CCNAAGCNCAACNCGCCACNCATTNGCTCCCCNCCTCNTNNATACCTNCCNCCCTTCGGATATCN
AGCANGCGCCNCACCGNTCATTTNCCN

30 (I) Angaben zur SEQ ID NR. 5:

(1) Sequenzcharakteristika:

(A) Länge: 1007 Basenpaare

35 (B) Typ: Nucleinsäure

(C) Strangtyp: Doppelstrang

(D) Topologie: linear

(2) Molekülart: DNA

40 (3) hypothetisch: nein

(4) Antisense: nein

(5) Herkunft:

45 (E) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

13

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 5:

TCCCNATTGGGTACCTTACCTGGTACCCACCCGGGTGGAAAATCGATGGGCCCCGCGCCGCTCTA
GAAGTACTCTCGAGAAGCTTTTTGAATTCTTTGGATCCGAGCTGAACACATGGGTGATGTTTTTT
5 TGAACCAGCACTGAGGCTGCGCTGGCCGCTGTTGAAAGCCCAGGTCAGACAGCTCTGTGTCCAA
TTGTCCCTGCATTTCGGGACGTGGCGTTGTATTTCAGTCTGCCCCGTGTCGGAGCAGAATCAGGCGAC
GAGTCACAGGACTACCTCTTAATCGTCCTCGTAGCCAGGCTCGTATTCAGCTGGCAAAGGTGGGA
GTTTCATCAATGCTGTGCGATGTTGCGGATATCCGCCTCATCAGACCAGGAGGATNCACGCNTGAAG
GTTTCAAGTCCCTTCAATTTCAATGAGTGGGCAGTCNCGGTACAGACNATCCANTCCGTATAACTC
10 GCGCTCTGCCTGTGCTGAACGTGGATAACAACCNATCCGTAGTCAAGGAGAACCCAACNGTTTT
CGCGGTTGCCTTCACGGCGCTTAGGCTCGAAACCAGCCTTGGTCATCTNCATCTTCGATCTCCTC
NACAATGGCGCCACCTTGGCGCTCATTTGTCCGCAGATGCAACNACNAANCAATTCTCGTGATT
GNCGATCACTGTCNNAACATCCAATNACAGCGATGTCNNCNGCCTTTCTTTTCNTGCCGCTGCT
TTCGCCNCCATGGTCCCGAAGCCGATCGANTCCTCCATNTGCANATCAAAATTCNNTAAANCAGC
15 TNCNTGTNGTTCCNCAACCCNCTTTTTTANGGTCCGAAACCNACCCTNCNGAAANAATCCCCACGTC
AACCTTCCCTNTTTCCCNCTANACCGGGTGATTTCNCCTACTTTNGGNTCGAATTTAAACTTTTNA
NCANATTTCTCTNGTTTTTGGGCCTTGGGATCATTTCCCTATTTCGATCCTNCTGGTCAAAAATTG
GGNTTNGGCTATTCTTCNCCACCCCCCANGGA

20 (I) Angaben zur SEQ ID NR. 6:

(1) Sequenzcharakteristika:

(A) Länge: 748 Basenpaare
25 (B) Typ: Nucleinsäure
(C) Strangtyp: Doppelstrang
(D) Topologie: linear

(2) Molekülart: DNA
30 (3) hypothetisch: nein
(4) Antisense: nein

(5) Herkunft:

35 (F) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 6:

TTGANNCNTTNNNGGAGCTCCCCGCGGTGGCGGCCGCTCTAGAACTAGTGGATCGACACGCTGAC
40 ATCACCAGGCTGCAAATCAAGGCCAAGCGCAGCCGAGCATTTATCTCCCGTGCCTGCAGCAACTT
TCACTCCACCTGGAGTTGTTCCCGCAATCGCATTTGGGGCCAGGAGTTCAGGAAGTTCCACCTCA
TGGCCCAGCGCCAAGGCAGCTAGATCGGTGCGCCACGCACGATCACGCGTGCTGTAGTAGCCCGT
TCCAGAAGCATCACCATGGTCGGTGACTTTGCGTCCGCGTCCCATCAAATGCCAGGTGAGGAAAT
CATGAGGCAACATCACCGACGCCGTGCGCGCTGCATTTTCTGGTTTCATGATCACGCATCCACCGC
45 ATTTTGGTGGCAGTTAAAGAAGCAACATACACACTTCCCGTGGCATCTACCGCAGCCTGATCGCC
GCCGATCTCCTCATTTGAGATCCAACGCAGCCTGGGCAGAACGAGTGTCATTCCATAACAACGCCG
GGCGAACGATTTTCATCGTTTTTCATCCAACGCCACCATGCCGTGCTGCTGGCCTGCAATAGATACA

14

CGGTCCGCGCGTTCTAACAACCCCTCGGTAGCTTGATCCAGCGCAGCGATCCACGCACGTGGATC
TACTTCGACCCGTTCTGGGGTGACTCGCGCGGCTTCGTCGATACCTGGCCGGTGGCGGCGTCACAA
GCAAAAGCCTTGACAGGAATGGGTGGGAACATC

5 (I) Angaben zur SEQ ID NR. 7:

(1) Sequenzcharakteristika:

- (A) Länge: 648 Basenpaare
10 (B) Typ: Nucleinsäure
(C) Strangtyp: Doppelstrang
(D) Topologie: linear
(2) Molekülart: DNA
(3) hypothetisch: nein
15 (4) Antisense: nein
(5) Herkunft:
(G) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

20 (6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 7:

TGCAGCCCGGGGATCACCGACGCCAAGGCTACGTAGGAATCCCCTTCCCCGACACCATCGTGCG
CATCGCAAACCCAGAAAACCTCGACGAAACCATGCCCGACGGCAGCGAAGGCGAAGTCCTAGTCA
AGGGCCACAGGTGTTCAAGGGTTACCTCAACCAGGAAGAAGCCACCAAGAACAGCTTCCACGGC
25 GAGTGGTACCGCACCGGCGACGTCGGAGTGATGGAAGAAGACGGGTTCATCCGCCTAGTTGCTCG
CATCAAGGAAGTCATCATCACTGGCGGTTTCAACGTGTACCCAGCTGAGGTTGAAGAAGTCCTCG
CAGAGCACCCAGACATTGAAGATTCCGCAGTCGTTGGTATCCCGCGTGAAGACGGCTCCGAAAAC
GTCGTTGCTGCATCACTTTGGTGGGAAGGTGCAGCGCTGGATCCGGATGGCCTGAAGGAATTCGCC
GCAAGAACCTACCCGCTCAAGGTTCCGCGCACTTTCTACCACTTTGAGGAGATGCCGCGGGATCA
30 GATGGCAAGATTAGGCGTCGTGAAGTGCANGCGGAGTTGTTGAAGAACTCGGCAGTNACGCCGAT
TAAGAGGTCAGTTTCCAAATGGCACTTACCAATTGGNCTAGTTACCCCCANAAGCATTTTGAGGG
TTCCACTTTTACCCAGTGGGNTGTGTGATCCTNT

(I) Angaben zur SEQ ID NR. 8:

35

(1) Sequenzcharakteristika:

- (A) Länge: 698 Basenpaare
(B) Typ: Nucleinsäure
40 (C) Strangtyp: Doppelstrang
(D) Topologie: linear
(2) Molekülart: DNA
(3) hypothetisch: nein
45 (4) Antisense: nein

15

(5) Herkunft:

(H) Organismus:

Corynebacterium glutamicum

5 (6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 8:

GCAGCCCGGGGATCCTTGGTGNCACCACCCTGGACATGCTCAAGATGGAACAGCAAATCGACTC
CCTGGCACCAGGCGATGCGAAGCGCTACATGCACCACTACAACCTCCCTCCATACTCCACCGGTG
AAACCGGTCTGTGTGGGCTCACCAAAGCGCCGCGAAATCGGCCACGGTGCACTTGCAGAACGCGCA
10 GTTTTGCCAGTAATCCCATCCCGTGAGGAATTCCCATACGCAATCCGTCAGGTCTCTGAAGCTCT
GGGCTCCAACGGCTCCACCTCCATGGGCTCTGTCTGTGCATCCACTCTGTCCCTGTACAACGCTG
GTGTTCCACTGAAGGCACCTGTTGCAGGTATCGCCATGGGACTTGTTTCCGGTGAAATCGACGGC
AAGACCGAGTACGTTGCACTGACCGACATCCTCGGCGCAGAAGACGCATTTCGGCGACATGGACTT
CAAGGTTGCCGGCACCGCAGACTTCATACCGNACTTCAGCTGGACACCAAGCTGGACNGCATTC
15 TTCAAGGTGCTCTCCGATGCGCTTGAGCANGCACGCGATNCCGACTGACATCTGAACACATGGCT
GATGTATCAACGGACCTTGATGAGATGAGCAAGTTCGTTCTGCATACCACCGNGAAATCCCATGG
CAAATCGNGACTGTGACCAAGGGTAGACATTACGCTTTACNATTCG

(I) Angaben zur SEQ ID NR. 9:

20

(1) Sequenzcharakteristika:

(A) Länge: 1159 Basenpaare
(B) Typ: Nucleinsäure
25 (C) Strangtyp: Doppelstrang
(D) Topologie: linear

(2) Molekülart: DNA
(3) hypothetisch: nein
30 (4) Antisense: nein

(5) Herkunft:

(I) Organismus:

Corynebacterium glutamicum

35

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 9:

TTNANNCGTTTGGAGCTCCCCGCGGTGGCGGCCGCTCTAGAACTAGTGGATCACACAAAATGATT
AGATTGTGTGCGAATTCATCCAATTGCTGTCTATATGCAGTACGCATGGCAACACTATAAGGCGA
40 TAATGGTATTTCTGCAGGCCTAAAACACCCCTTTAAGATTGAATCACCTAATAATGGGGGATAGC
CAACTATTGGCGGGGGTAAGT
ATTAAATTAACCTCCGGAGTTTTCATTTCTGCGCCTTTAGGAACAGTGGCATCCTCAGGA
TCGTCCAACCAGCCATCTGGAAGTGCCACCTTTGCAGGAGCGCCCTGTGACCTCGTGACCTTC
CGCGTCTCTGCCCTGGCGGTGRAGTCAGCCCATGGTGCTAGGAGATCCTCAAGCTCCACATAGG
45 TGGAAACCTTGGCCAGATTGGAGCGGAATTCGCCGCCAACAGGGAAACCGCGCAGGTCCAACCCA
TGTGCTTACGCAGATCGCGCAGCCCCCTTGGTTTCGCCATCATGCTGCATGAGGAGTTCTGCGTGG
CGCAGGATGATTTGGGTAACCTTCGCCGAAGGTAGGCTCCTCTGGGATTTCTTCTCCACGAACAGC

16

AGCAGCAGCTCAGCAAAGAGCCAAGGCCTGCCCAGGCAACCACgGCCCCAACACGACGCCATCGC
AGCCAGTTTGTCTCCATCATGCGCGTTGCATCGGATGCCGCGAAAATATCGCCATTGCCCCAAACT
GGGATGCCGGTATCTGCCAAATGCTCYTTCAGGCGCGCGATCTYGTTCGAATCAGCCTCACCGGA
ATAGCGCTGCGCCGAGTGCGGGCGTGAAGCGCTACGGACTTCGCGCCGGCGTCGACAGCAATGC
5 GTCCAGCATCCAAGTGAGTATGGTGCTCATCATCAATACCAACGCGGAAC TTCACCGTCACCGGA
ATGTCCGTGCCTTCCGTAGCCTTCACAGCCGCGGAAACGATGTTTTCAAACAAACGGCGCTTGTA
AGGAATCGCAGAACCGCCACCCCGGCGGTGACCTTTGGAACCGGGCAGCCAAAGTTTCATATCAA
TATGATCCCCCGGGCTGCAGGAATTCGATATCAAGCTTATCGATACCGTCGACCTCGAGGGGGG
CCCCGTACCCAGCTTGTGTTCCAANGGNTCCAA

10

(I) Angaben zur SEQ ID NR. 10:

(1) Sequenzcharakteristika:

- 15 (A) Länge: 761 Basenpaare
(B) Typ: Nucleinsäure
(C) Strangtyp: Doppelstrang
(D) Topologie: linear

- 20 (2) Molekülart: DNA
(3) hypothetisch: nein
(4) Antisense: nein

(5) Herkunft:

25

(J) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 10:

30 TTGAANCCTTANNGGAGCTCCACCGCGGTGGCGGCCGCTCTAGAAGTAGTGGATCTCGATTCACT
CGAGCTTGATGAAACTGTCAAGGTCGTTGCCTTCACTCACCAGTCCAATGTGACCGGTGCTGTGG
CTGATGTTCCAGAGTTGGTTTCGTGCGTGCCTGCAAGGCTGTCGGCGCTCTCACGGTGCTTGATGCGTGC
CAGTCTGTTCTCATATGCCAGTGAATTTCCACGAGCTGGATGTAGATTTCTCTGCATTCTCTGG
CCATAAGATGCTGGGACCTGCAGGCGTGGGCGTTGTGTATGCAAAGTCCCCAATCTTGATGAAC
35 TGCCACCATTTTTGACTGGTGGTTCCATGATTGAAGTTGTACCATGGAGGGTTCCACCTACGCT
GCCGCACCTCAACGTTTTGAGGCCCGGCACGCAGATGACCAGCCAGGTTGTGGGCTTGGGTGCTGC
CGTGACATGCTGAATGAAATCGGTATGGAAGCAATCGCAGCNGCATGAGCACGCATTGACTGCT
TACGCGTTGGAAAAGCTCACGGCAATTAAAGGGACTAACCATTTGCTGGTCCTTTTACTGACAGAG
CATCGCGNGGTGCAATCAGCTTCNGTGTGNANGGCATTACCNACACGATCTANGGCAAAGTGC
40 TTGACCATCAGGGCGTGAATATTCCGNGTCGGGCACCACTGTGCGTGGGCCTGCACCGCANCATT
GAACGTNCAATNGNANACAAGAGCATTTTTCTATCTCTATTACACC

(I) Angaben zur SEQ ID NR. 11:

45 (1) Sequenzcharakteristika:

- (A) Länge: 791 Basenpaare

17

(B) Typ: Nucleinsäure
(C) Strangtyp: Doppelstrang
(D) Topologie: linear

5 (2) Molekülart: DNA
(3) hypothetisch: nein
(4) Antisense: nein

(5) Herkunft:

10

(K) Organismus: *Corynebacterium glutamicum*

(6) Beschreibung der Sequenz: SEQ ID NR. 11:

15 TTGACCCTTTAGCTGGGTACCGGGCCCCCCTCGAGGTCGACGGTATCGATAAGCTTGATATCGA
ATTCCTGCAGCCCGGGGATCTTCATCGCCAACAACTGACCGCGGGAAACGATCATCTTCTCAA
ATTCTGTGAGCTTTTCCAGCGCCTTGTCGACGGGTGGCCACGATCTCCTCGGCCATAACGGAC
GTGGAGGCCTGGCTGATTGAGCAACCAACTGCTTCGTAGGAGACGTCCTCCACGGTGGAGCCGTC
CTCAGACAGCTTCACGCGCAGAGTCAATTCGTGCGCCACAAGAAGGGTTGACGTGGTGAACCTCAG
20 CATCGAAAGGATCCCGAAGGCCCTTGCTGCTGTGGGTTTTTGTAGTGGTCCAGGATCACCTCCTGG
TACATCTGCTCAAGGTTCACTACTCAACTCCAAAGAATTGCTTGGCCTTCTCGATCGCTGCCGCG
AGGCGGTTCGATTTCTTCGAAGGTGTTATAGAGATAGAAAGATGCTCTTGCTGTGATTTGTACCGT
TCATGCTGCGGTGCACGGCCACGCGCAGTGGTGGNCGACGCCGGATATTCACGCCCTGATCGTCA
AGCACTTGGCCTAANC GTGTGGGTGAATGCCTCGACACCGAACTGATGCACCGGCGNCTGCTNTN
25 CATCAAAGGACCANCNATGGGTAAGTCCTTAATGCCGNGAGCTTTTCAACGCGTAAGCAGGTAA
TGCNNCTATGCNCTGCGATGNTTTCATACCGATTNNTTAAGANTNTCCCCGGNGTNCCCNANCCC
NAAACTGGTTN

30

35

40

45

Patentansprüche

1. Ein gereinigtes Polynucleotid mit einer Nukleinsäuresequenz,
5 die aus der folgenden Gruppe ausgewählt ist: SEQ ID NR. 1, SEQ ID NR. 2, SEQ ID NR. 3, SEQ ID NR. 4, SEQ ID NR. 5, SEQ ID NR. 6, SEQ ID NR. 7, SEQ ID NR. 8, SEQ ID NR. 9, SEQ ID NR. 10, SEQ ID NR. 11.
- 10 2. Ein Expressions-Vektor mit einem dem Anspruch 1 entsprechenden Polynucleotid.
3. Eine Wirtszelle, die mit dem Expressions-Vektor aus Anspruch 2 transformiert ist.
- 15 4. Eine Methode zur Herstellung und Reinigung eines Polypeptids, die aus folgenden Schritten besteht:
- (a) Kultivierung der Wirtszelle aus Anspruch 3 unter Bedingungen, die für die Expression des Peptids geeignet sind;
20 und
- (b) Gewinnung des Polypeptids aus der Wirtszellkultur.

25

30

35

40

45